

## РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ИЗМЕНЕНИЯХ КИСЛОРОДНОЙ СТОИМОСТИ РАБОТЫ СЕРДЦА

Сагач В.Ф., Шиманская Т.В., Надточий С.Н.

*Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев*

Известно, что оксид азота играет важную регуляторную роль во многих физиологических процессах: в сердечно-сосудистой системе он принимает участие в расслаблении сосудистых гладких мышц, регуляции кровяного давления, благоприятствует диастолическому расслаблению сердечной мышцы [1], агрегации и адгезии тромбоцитов, угнетению пролиферации гладкомышечных клеток [2]. Действие NO на сосуды опосредуется, в основном, активацией растворимой гуанилатциклазы, ведущей к образованию цГМФ с последующим расслаблением сосудов. Известно, однако, что оксид азота может действовать по механизмам, не зависящим от цГМФ. Цитотоксическое действие макрофагов, опосредуемое NO, является результатом инактивации железо- и железосерусодержащих ферментов, входящих в состав дыхательной цепи [3].

В ряде работ, выполненных в условиях *in vivo* и *in vitro*, показана важная роль оксида азота в модуляции потребления кислорода и клеточного дыхания [4, 5]. Целью нашего исследования было изучение изменений потребления кислорода изолированным сердцем морской свинки в условиях активации и угнетения синтеза оксида азота коронарным эндотелием и определение кислородной стоимости работы сердца в этих условиях.

### **Материалы и методы исследований**

Эксперименты выполнены на изолированных сердцах морских свинок массой 350-450 г, перфузируемых по методу Лангендорфа при постоянном давлении раствором Кребса-Хензелейта. Развиваемое давление в левом желудочке и его первую производную измеряли тензодатчиками 746 и регистрировали на многоканальном поликардиографе "Мингограф-82" (Элема, Швеция). Скорость коронарного потока измеряли по объёму оттекающего от сердца перфузионного раствора за 1 мин. Электрическую стимуляцию сердца проводили с частотой 3 Гц.

Напряжение кислорода в притекающем и оттекающем от сердца перфузионном растворе измеряли с помощью газоанализатора BMS 3 Mk 2. Потребление кислорода рассчитывали по методу Neely. "Нагрузку объемом" создавали посредством растяжения баллончика под давлением 20 мм рт.ст. Стимуляцию инотропной функции миокарда производили с помощью соединения UKA-380 со свойствами  $\text{Ca}^{2+}$  - агониста в дозе  $6 \times 10^{-6}$  М. Перфузию L-аргинина осуществляли раствором в концентрации  $10^{-4}$  М, нитропруссидом Na -  $10^{-4}$  М. Блокада биосинтеза NO производилась с

помощью N-монометил-L-аргинина (L-NMMA) в концентрации  $10^{-4}$ М. Содержание  $\text{NO}_2$  определяли в пробах оттекающего от сердца раствора с помощью реактива Гриса спектрофотометрическим методом. Статистическую обработку данных производили разностным методом с использованием критерия Стьюдента.

### **Результаты и их обсуждений**

Результаты наших исследований свидетельствуют, что нагрузка объемом сопровождалась увеличением уровня NO в оттекающем от сердца перфузионном растворе с  $1,27 \pm 0,06$  нмоль/мл в контроле до  $1,64 \pm 0,08$  нмоль/мл при нагрузке объемом. Уровень развиваемого давления возрастал на 58%, что соответствовало совершаемой сердцем работе, однако потребление кислорода увеличивалось при этом лишь на 15%. Очевидное несоответствие навело нас на мысль, что оксид азота способен влиять на кислородную стоимость работы сердца. Действительно, кислородная стоимость работы сердечной мышцы уменьшалась на 28% и составляла  $0,013 \pm 0,0012$  ммоль  $\text{час}^{-1} \text{ г}^{-1}$  мм рт.ст $^{-1}$  при нагрузке объемом. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что нагрузка объемом приводила к стимуляции образования NO и сопровождалась увеличением эффективности использования кислорода сердечной мышцей. При инотропной стимуляции миокарда уровень оксида азота в оттекающем растворе увеличивался в 1,5 раза, а кислородная стоимость работы достоверно снижалась с  $0,0093 \pm 0,0008$  ммоль  $\text{час}^{-1} \text{ г}^{-1}$  мм рт.ст $^{-1}$  до  $0,0067 \pm 0,0009$  ммоль  $\text{час}^{-1} \text{ г}^{-1}$  мм рт.ст $^{-1}$ ,  $P < 0,001$ . Одной из причин снижения кислородной стоимости работы миокарда и, таким образом, более эффективного использования кислорода, может быть влияние NO на дыхательные ферменты митохондрий [6].

Для подтверждения данного вывода необходимо было ответить на вопрос, как изменяется кислородная стоимость работы сердца при иных способах повышения NO в миокарде, а также при блокаде активности NO-синтазы. Стимуляция синтеза NO при помощи L-аргинина сопровождалась снижением потребления кислорода с  $0,7 \pm 0,1$  ммоль  $\text{час}^{-1} \text{ г}^{-1}$  в контроле до  $0,5 \pm 0,08$  ммоль  $\text{час}^{-1} \text{ г}^{-1}$  при введении L-аргинина. В условиях нагрузки объемом на фоне перфузии L-аргинина наблюдали более существенное, на 43%, снижение потребления кислорода и уменьшение кислородной стоимости работы сердечной мышцы с  $0,017 \pm 0,0014$  ммоль  $\text{час}^{-1} \text{ г}^{-1}$  мм рт.ст $^{-1}$  до  $0,013 \pm 0,002$  ммоль  $\text{час}^{-1} \text{ г}^{-1}$  мм рт.ст $^{-1}$ ,  $P < 0,05$ . Полученные данные подтверждают вывод о важной роли оксида азота в регуляции процессов оксигенации ткани миокарда. Аналогичные изменения наблюдались нами и при перфузии миокарда донором NO - нитропруссидом натрия. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что оксид азота, синтезируемый эндотелиальными клетками, имеет модулирующее влияние на метаболизм миокарда морской свинки, что подтверждается данными об уменьшении величины потребления кислорода в условиях повышения

активности NO-синтазы с помощью L-аргинина или нитропруссиды натрия. Поскольку кислородная стоимость работы в этих условиях снижается, это свидетельствует о более эффективном использовании кислорода и дает возможность предположить регуляторную роль NO в процессах тканевого метаболизма.

В условиях блокады биосинтеза NO, сопровождающихся снижением развиваемого давления и параметров сократительной активности миокарда, наблюдалось увеличение потребления кислорода на 15%. Полученные результаты подтверждают вывод о действии NO на функцию митохондриальных ферментов, поскольку блокада биосинтеза NO приводила к увеличению потребления кислорода, несмотря на ограничение его доставки. Кислородная стоимость работы сердечной мышцы при этом достоверно увеличивалась с  $0,021 \pm 0,004$  ммоль час<sup>-1</sup> г<sup>-1</sup> мм рт.ст<sup>-1</sup> до  $0,025 \pm 0,005$  ммоль час<sup>-1</sup> г<sup>-1</sup> мм рт.ст<sup>-1</sup> (10-я минута перфузии),  $P < 0,02$ . Эти данные свидетельствуют о важной регуляторной роли NO в процессах клеточного метаболизма и его влияния на эффективность использования кислорода сердечной мышцей.

Таким образом, оксид азота является физиологическим регулятором потребления кислорода тканями и определяет кислородную стоимость работы миокарда. В патологических условиях, сопровождающихся угнетением его синтеза, недостаток NO может вести к существенному увеличению потребления кислорода и кислородной стоимости работы сердца.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Prendergast V.D, V.F.Sagach, A.M.Shan Basal release of nitric oxide augments the Frank-Starling response in the isolated heart // *Circulation*. -1997.-96.-P. 1320-1329.
2. Dinerman J.L., Lownstein C.J., Snyder S.H. Molecular mechanisms of nitric oxide regulation: potential relevance to cardiovascular disease // *Circ. Res.*-1993.-73.-p.217-222.
3. Drapier J.C., Hibbs J.B. Differentiation of murine macrophages to express nonspecific cytotoxicity for tumor cells results in L-arginine-dependent inhibition of mitochondrial iron-sulphur enzymes in the macrophage effector cells // *J.Immunol.*- 1988.- 140.- P.2829-2838.
4. Shen W., Xu X., Ochoa M., et al. Role of nitric oxide in the regulation of oxygen consumption in conscious dogs // *Circ. Res.*,-1994.-v.75, N 6.-p. 1086-1095.
5. Shen W., Wolin M.S., Hintze T.N. Defective endogenous nitric oxide-mediated modulation of cellular respiration in canine skeletal muscle after the development of heart failure // *1 Heart Lung Transplant*.-1997.-16.- p. 1026-1034.
6. Xie Y. W. Shen W., Zhao G. Role of endothelium-derived nitric oxide in the modulation of canine myocardial mitochondrial respiration in vitro. Implications for the development of heart failure // *Circ. Res.*,-1996.-73, N 3.-P.381-387.